

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.09.004

血清外泌体 miRNA-21、miRNA-214 联合检测在骨质疏松症诊断中的价值*

祁彩虹¹, 李 丽², 廖 璞^{1△}

1. 西南医科大学临床医学院检验科, 四川泸州 646000; 2. 重庆市人民医院检验科, 重庆 401147

摘要:目的 探讨骨质疏松症(OP)患者血清外泌体中微小 RNA(miRNA)-21 和 miRNA-214 的相对表达水平及其对 OP 的诊断价值。方法 选取重庆市人民医院 2022 年 1 月至 2023 年 12 月收治的 77 例 OP 患者作为 OP 组,另选取同期该院 81 例健康体检者为健康对照组。分离并鉴定血清外泌体,提取外泌体 miRNA。采用实时荧光定量反转录-聚合酶链反应(RT-qPCR)检测两组血清外泌体中 miRNA-21 和 miRNA-214 的相对表达水平。采用受试者工作特征(ROC)曲线评估血清外泌体中 miRNA-21 和 miRNA-214 对 OP 的诊断价值。结果 分离的血清外泌体中 CD63 标志蛋白呈高表达。OP 组血清外泌体 miRNA-21 和 miRNA-214 相对表达水平分别为 5.302(2.407, 9.765)和 1.875(1.605, 2.450),明显高于对照组的 1.338(0.801, 2.088)和 1.163(0.860, 1.391),差异均有统计学意义($P < 0.05$)。多因素 Logistic 回归分析结果显示,血清外泌体 miRNA-21、miRNA-214 相对表达水平升高是导致 OP 的危险因素($P < 0.05$)。ROC 曲线结果显示,血清外泌体 miRNA-21、miRNA-214 诊断 OP 的 AUC 分别为 0.853、0.811,灵敏度分别为 80.5%、89.6%,特异度分别为 79.0%、82.7%,二者联合诊断 OP 的 AUC 为 0.919,灵敏度为 90.9%,特异度为 84.0%。结论 血清外泌体 miRNA-21 和 miRNA-214 单独检测对诊断 OP 具有一定的价值,二者联合检测可提高诊断的准确性,有临床应用价值。

关键词:骨质疏松症; 血清外泌体; miRNA-21; miRNA-214; 诊断

中图法分类号:R446.9

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2024)09-1203-05

Value of combined detection of serum exosomal miRNA-21 and miRNA-214 in the diagnosis of osteoporosis*

QI Caihong¹, LI Li², LIAO Pu^{1△}

1. Department of Laboratory Medicine, the Clinical Medical School of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China; 2. Department of Laboratory Medicine, Chongqing General Hospital, Chongqing 401147, China

Abstract: Objective To investigate the relative expression levels of microRNA-21 (miRNA-21) and miRNA-214 (miRNA-214) in serum exosomes of patients with osteoporosis (OP) and their diagnostic value in OP. **Methods** A total of 77 OP patients admitted to Chongqing General Hospital from January 2022 to December 2023 were selected as the OP group, while 81 healthy individuals who underwent physical examinations in the hospital during the same period were selected as the healthy control group. Furthermore, serum exosomes were isolated and characterized, and miRNAs were extracted. Real-time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (RT-qPCR) was conducted to assess the relative expression levels of miRNA-21 and miRNA-214 in the serum exosomes in both groups. Receiver operating characteristic (ROC) curves were employed to assess the diagnostic value of miRNA-21 and miRNA-214 in serum exosomes for OP. **Results** The CD63 marker protein was highly expressed in isolated serum exosomes. The relative expression levels of miRNA-21 and miRNA-214 in serum exosomes in the OP group were 5.302 (2.407, 9.765) and 1.875 (1.605, 2.450), respectively, which were significantly higher than those of the healthy control group [1.338 (0.801, 2.088), 1.163 (0.860, 1.391)], and the differences were all statistically significant ($P < 0.05$). The results of multivariate Logistic regression analysis showed that elevated relative expression levels of miRNA-21 and miRNA-214 in serum exosomal were risk factors for the development of OP ($P < 0.05$).

* 基金项目:国家自然科学基金青年基金项目(82002257);重庆市科卫联合面上项目(2022MSXM106)。

作者简介:祁彩虹,女,在读硕士研究生,主要从事生物标志物检测新技术新方法方面的研究。△ 通信作者, E-mail: liaopu2015a@

The results of ROC curve showed that the AUCs of serum exosomal miRNA-21 and miRNA-214 for the diagnosis of OP were 0.853 and 0.811, with the sensitivities of 80.5% and 89.6%, specificity of 79.0% and 82.7%, respectively, and the AUC of the combined detection of miRNA-21 and miRNA-214 for the diagnosis of OP was 0.919, with sensitivity of 90.9% and specificity of 84.0%. **Conclusion** The detections of serum exosomal miRNA-21 and miRNA-214 alone have some value in diagnosing OP, and the combination detection of the indicators can improve the accuracy of diagnosis of OP, with clinical application value.

Key words: osteoporosis; serum exosomes; microRNA-21; microRNA-214; combined detection; diagnosis

骨质疏松症(OP)是因骨组织质量和密度减少,从而导致骨骼脆弱易碎的一种普遍存在的骨骼疾病^[1]。随着人口老龄化进程加剧,OP已成为全球流行病之一,其发病率仅次于心血管疾病和糖尿病,在慢性病中排名第3位。2018年国家卫生健康委员会发布的首个我国OP流行病学调查结果显示,我国50岁以上人群的OP患病率为19.2%,而65岁以上人群的患病率高达32.0%^[2]。据世界卫生组织预测,到2050年我国骨质疏松性骨折患者将达600万例,相应的医疗费用将达254亿美元/年^[3]。我国每年有数百万人因OP导致骨折,其中约1/5的患者因骨折并发症而死亡,约一半的存活者会面临不同程度的残疾,这给家庭和社会带来了沉重的负担^[2,4]。因此,为了提高OP患者生活质量,早期诊断必不可少。

目前,OP的诊断常通过测量骨密度并结合患者的家族史和临床症状来进行综合评估^[5-6]。外泌体微小RNA(miRNA)是一类具有基因表达调控功能的小分子RNA,通过调控多种生物学过程,在靶细胞内发挥作用^[7]。外泌体miRNAs可以通过调节OP患者骨细胞的增殖、分化、凋亡等过程来调控骨形成与骨吸收的平衡,从而影响骨组织的代谢和再生。研究发现,与OP相关的外泌体miRNAs在血液、尿液和骨髓液等体液中的表达水平发生了变化,表明其在OP的早期诊断、治疗监测及预后判断中可能作为潜在的生物标志物^[8-9]。近年来,越来越多的研究强调了外泌体miRNAs可能成为OP的生物学标志物,在OP患者早期诊断中发挥重要作用^[10-12]。本研究从OP患者的血清中提取外泌体,检测其中miRNA-21和miRNA-214的表达水平,进一步分析二者在OP临床诊断中的应用价值,为OP的早期诊断提供依据。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2022年1月至2023年12月重庆市人民医院收治的OP患者为研究对象。纳入标准:(1)骨密度测量结果显示骨量减少;(2)具有特定类型的骨折史;(3)常出现骨痛、身高减少和脊柱弯曲等症状。排除标准:(1)可能导致OP样表现的其他骨病,如骨肿瘤、骨髓炎等;(2)使用可能导致OP的激素类药物;(3)合并其他可能与OP有关的疾病,如甲状旁腺功能亢进等。共纳入OP组77例,其中男

35例、女42例,平均年龄(71.08±10.54)岁。另选取同期在重庆市人民医院体检中心体检的81例健康者为对照组,其中男38例、女43例,平均年龄(69.96±8.77)岁。两组性别、年龄比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。所有研究对象均知晓本研究,并签署知情同意书。本研究获重庆市人民医院医学伦理委员会批准(编号:S2020-200-01;S2021-065-01)。

1.2 仪器与试剂 外泌体提取试剂盒由江苏凯基生物科技股份有限公司提供;miRNA提取试剂盒由杭州倍沃医学科技有限公司提供;miRNA第一链cDNA合成(加尾法)试剂盒由生工生物工程(上海)股份有限公司提供;BlasTaq 2×qPCR MasterMix试剂由Applied Biological Materials提供;伯乐CFX96实时荧光定量PCR仪;JEM-1200EX透射电子显微镜(BTEM技术)购自日本电子株式会社;PMX110纳米颗粒跟踪分析仪(NTA技术)购自德国Particle Metrix公司。

1.3 方法

1.3.1 血清外泌体提取及鉴定 收集所有研究对象的血清,按照试剂盒说明书操作步骤提取血清外泌体,将得到的纳米级囊泡复溶在300 μL磷酸盐缓冲液(0.1 mol/L, pH值7.4)中,保存于-80℃环境中。所有样品的处理和离心都在冰上进行。采用生物透射电镜和NTA技术表征外泌体的形态和大小^[8,10],采用蛋白质印迹法(WB)检测外泌体标志物CD63的表达。

1.3.2 血清外泌体 miRNA-21 和 miRNA-214 提取及检测 按miRNA提取试剂盒说明书,从外泌体中提取miRNA,然后进行实时荧光定量反转录-聚合酶链反应(RT-qPCR)。用miRNA第一链cDNA合成试剂盒进行反转录,得到cDNA。随后用BlasTaq 2×qPCR MasterMix试剂对cDNA进行扩增,反应条件:95℃ 3 min 预变性,95℃ 1 s 变性,60℃ 10 s 退火延伸,40个循环进行扩增,每个样品重复3次。用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算miRNA-21和miRNA-214的相对表达水平。

1.4 统计学处理 采用SPSS 27.0统计软件进行数据分析。使用K-S检验对连续数据的正态性进行检验,对服从正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 t 检验;对不服从正态分布计量资料以中位数(四分位数)[$M(P_{25}, P_{75})$]表示,两组间

比较采用非参数检验。采用多因素 Logistic 回归分析影响 OP 发生的因素;采用受试者工作特征(ROC)曲线分析 miRNA-21 和 miRNA-214 单独检测及联合检测诊断模型对 OP 的诊断价值。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 血清外泌体的鉴定 采用 BTEM 和 NTA 技术表征 OP 患者血清外泌体。如图 1A 和图 1B 所示,外

泌体的大小不一,呈现出类似圆形或椭圆形的双层脂质膜囊泡,直径为 25~265 nm,中位粒径为 105 nm。采用 WB 鉴定血清外泌体特异性蛋白表达,结果显示,血清外泌体中 CD63 标志蛋白呈高表达(图 1C)。

2.2 两组血清外泌体 miRNA-21、miRNA-214 表达水平比较 OP 组血清外泌体 miRNA-21 和 miRNA-214 相对表达水平明显高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

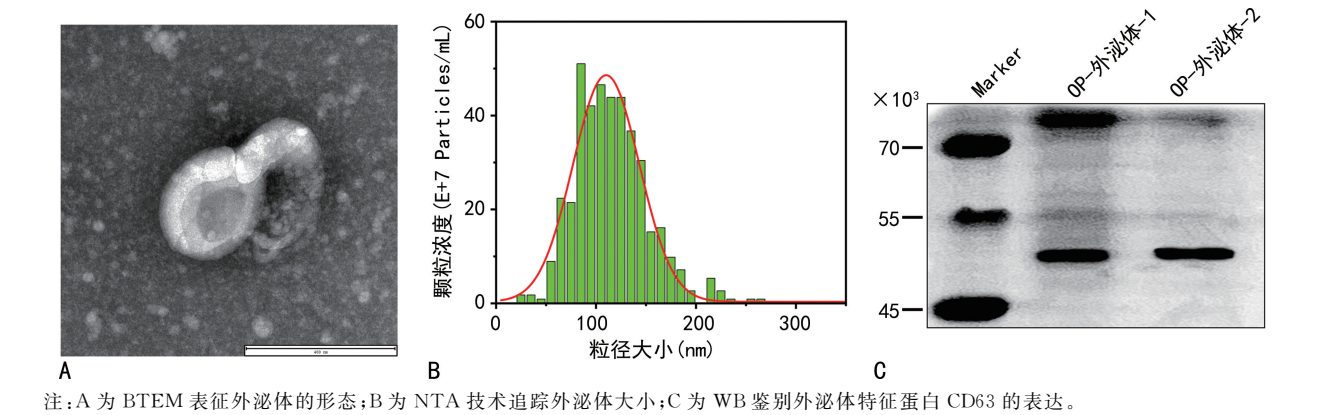


图 1 BTEM、NTA 和 WB 对血清外泌体的鉴定

表 1 两组血清外泌体 miRNA-21、miRNA-214 表达水平比较[M(P ₂₅ ,P ₇₅)]			
组别	n	miRNA-21	miRNA-214
对照组	81	1.338(0.801,2.088)	1.163(0.860,1.391)
OP 组	77	5.302(2.407,9.765)	1.875(1.605,2.450)
Z		-7.662	-6.743
P		<0.001	<0.001

2.3 miRNA-21、miRNA-214 影响 OP 发生的 Logistic 回归分析 以是否患 OP 为因变量(赋值:是=1,否=0),以 miRNA-21、miRNA-214 的相对表达水平为自变量(赋值:均为原值输入),进行多因素 Logistic 回归分析。结果显示,miRNA-21、miRNA-214

相对表达水平升高是导致 OP 发生的危险因素($P<0.05$)。见表 2。

2.4 血清外泌体 miRNA-21、miRNA-214 单独及联合检测对 OP 的诊断效能分析 根据多因素 Logistic 回归分析得到血清外泌体 miRNA-21、miRNA-214 联合检测诊断模型,即 $Y=-3.326+0.624\times X_{\text{miRNA-21}}+0.756\times X_{\text{miRNA-214}}$ 。以对照组为阴性样本,OP 患者为阳性样本,绘制 ROC 曲线。结果显示,血清外泌体 miRNA-21、miRNA-214 联合检测诊断 OP 的灵敏度为 90.9%,特异度为 84.0%,AUC 为 0.919,高于 miRNA-21、miRNA-214 单独检测的 AUC(0.853、0.811),差异均有统计学意义($Z=-3.079,P<0.05$; $Z=-3.518,P<0.001$)。见表 3、图 2。

表 2 miRNA-21、miRNA-214 影响 OP 发生的 Logistic 回归分析						
因素	B	SE	Wald χ^2	OR	OR 的 95%CI	P
miRNA-21	0.624	0.131	22.796	1.867	1.445~2.413	<0.001
miRNA-214	0.756	0.202	13.929	2.129	1.432~3.166	<0.001
常数项	-3.326	0.537	38.298	0.036	—	<0.001

注:—表示无相关数据。

表 3 血清外泌体 miRNA-21、miRNA-214 单独及联合检测诊断 OP 的效能分析							
指标	灵敏度(%)	特异度(%)	约登指数	最佳截断值	AUC	AUC 的 95%CI	P
miRNA-21	80.5	79.0	0.595	2.18	0.853	0.796~0.911	<0.001
miRNA-214	89.6	82.7	0.723	1.49	0.811	0.737~0.885	<0.001
miRNA-21+miRNA-214	90.9	84.0	0.749	0.35	0.919	0.877~0.961	<0.001

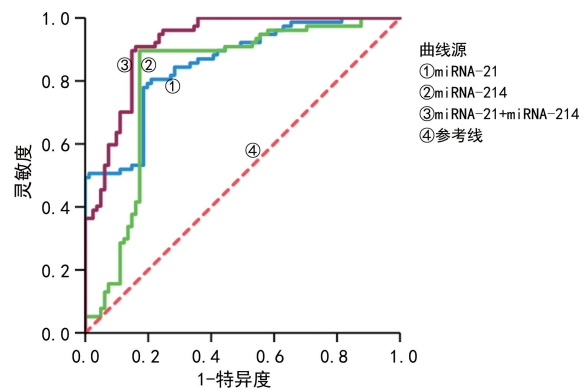


图 2 血清外泌体 miRNA-21、miRNA-214 单独及联合检测诊断 OP 的 ROC 曲线

3 讨 论

OP 在全球范围内分布广泛,其发病率随着人口老龄化趋势的加剧而上升。流行病学研究表明,OP 对中老年人(特别是女性)的身体健康影响较大。女性绝经期后由于雌激素水平降低,患 OP 的风险明显增加^[1,13]。此外,一些慢性疾病、遗传因素、不良生活方式和营养不良也与 OP 的发生、发展密切相关。OP 使骨骼(特别是脊椎、髋部和腕部)易发生骨折,不仅会导致疼痛和功能障碍,还可能引发残疾等严重的健康问题,导致生活质量下降^[2-3]。总体而言,对患者的健康和生活质量造成重大影响的 OP 是一个严重的公共卫生问题。预防、早期诊断和综合治疗是控制 OP 的关键策略,可以减少骨折风险并提高患者的生活质量^[4]。

目前,OP 的诊断多以影像学检查并辅以实验室检查而确诊,然而,实验室诊断缺乏早期诊断指标,且特异度不高、灵敏度也较低,影像学诊断在出现结构改变时才能发现,这些改变往往不可逆,不利于患者的预后^[14]。

miRNAs 是一类内源性非编码小分子(长度通常为 19~25 个核苷酸)单链 RNA,广泛存在于真核生物中,高度保守,通过与靶基因 mRNA 的互补序列(3'非翻译区、5'非翻译区、编码区)结合,在转录后水平调节基因表达^[15]。miRNAs 参与疾病的起源和发展,并具有病理特异性,因此可作为疾病早期检测的生物标志物^[16]。

外泌体是一种细胞主动分泌的纳米囊泡(直径 30~150 nm),具有脂质双分子层结构,内含多种核苷酸(如 DNA、miRNA、LncRNA 等)、特异性蛋白和脂类等遗传物质^[17]。研究表明,外泌体可作为遗传信息的传递者参与多种疾病的发生、发展,通过携带和传递信号分子到细胞,从而调节细胞的病理和生理状态^[17-18]。在许多生物过程中,细胞将 miRNAs 包裹在外泌体内,通过外泌体释放到外周循环,从而靶向调控受体细胞中靶 mRNA 的翻译。研究发现,外泌体的脂质双分子层结构可使其包裹的物质免受 RNA 酶及蛋白酶等的降解^[19-20]。循环 miRNAs 被外泌体包

裹后具有高度生物学稳定性,如血浆外泌体 miRNA 在 4 ℃ 储存 96 h 或在 -70 ℃ 下储存 4 周后,其表达谱仍无明显变化,且在 -20 ℃ 以下保存 5 年仍能保持其数量的相对稳定,甚至在经过 2 次反复冻融后仍未受到明显影响^[21]。因此,除生物学特性及靶向特异性外,外泌体的膜结构可增强 miRNAs 的稳定性,提高其作为 OP 早期诊断生物标志物的能力。

研究发现,在 OP 的发病机制中,外泌体 miRNAs 发挥了重要作用。SUN 等^[10] 研究发现,破骨细胞能够分泌非常丰富的外泌体源性 miRNAs,并验证了其在血液循环中不仅可以作为骨量丢失的生物标志物,还可选择性地调节成骨细胞的功能。LI 等^[8] 研究发现,血清外泌体 miR-214-3p 水平升高与老年女性的骨折及去卵巢小鼠的骨形成减少密切相关,骨髓间充质干细胞成骨分化可被破骨细胞分泌的含有 miR-214 的外泌体囊泡抑制。MENG 等^[12] 研究发现,miRNA-21 通过靶向调控多个信号通路和基因表达,参与调节骨细胞增殖、分化和骨重建等过程,可抑制骨吸收,促进骨形成,从而对 OP 的发生和发展产生影响。miRNA-21 和 miRNA-214 的异常表达可能导致骨细胞功能紊乱,破坏骨吸收与骨重建的平衡,从而导致 OP 的发生。说明骨组织细胞来源的外泌体 miRNA-21 和 miRNA-214 可能作为早期诊断的生物标志物,在 OP 的早期筛查及诊疗过程中蕴含巨大潜力和价值,临床应用前景广阔。

本研究结果表明,OP 组血清外泌体 miRNA-21 和 miRNA-214 表达水平高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。除此之外,本研究还评估了 miRNA-21 和 miRNA-214 检测在 OP 诊断中的应用价值,结果显示,血清外泌体 miRNA-21、miRNA-214 联合检测诊断 OP 的灵敏度(90.9%)和特异度(84.0%)均较高,且二者联合诊断 OP 的 AUC 为 0.919,高于各指标单独检测的 AUC。表明血清外泌体 miRNA-21 和 miRNA-214 联合检测对 OP 患者和健康人群的识别更准确,可提高 OP 早期发现率。

综上所述,血清外泌体 miRNA-21 和 miRNA-214 表达水平升高是导致 OP 发生的危险因素,miRNA-21 和 miRNA-214 单独检测对 OP 的诊断具有一定的价值,且二者联合检测可提高诊断的精确性。通过外泌体来源的 miRNAs 诊断 OP,具有准确、快捷和无创等特点。但本研究样本量较少,可能会造成某种程度上研究结果的偏倚,因此存在一定的局限性。在本研究基础上,未来需要加大样本量,并开展多中心前瞻性研究,进一步验证该结论,从而为 OP 患者的早期诊断提供理论基础。

参考文献

[1] YASOTHAN U, KAR S. Osteoporosis: overview and pipeline[J]. Nat Rev Drug Discov, 2008, 7(9): 725-726.

[2] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会. 中国骨质疏松症流行病学调查及“健康骨骼”专项行动结果发布[J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2019, 12(4): 317-318.

[3] SI L, WINZENBERG T M, JIANG Q, et al. Projection of osteoporosis-related fractures and costs in China: 2010 — 2050[J]. Osteoporos Int, 2015, 26(7): 1929-1937.

[4] SUH B, YU H, KIM H, et al. Interpretable deep-learning approaches for osteoporosis risk screening and individualized feature analysis using large population-based data: model development and performance evaluation[J]. J Med Internet Res, 2023, 25: e40179.

[5] ORTIZ M, JAUSET-RUBIO M, TRUMMER O, et al. Generic platform for the multiplexed targeted electrochemical detection of osteoporosis-associated single nucleotide polymorphisms using recombinase polymerase solid-phase primer elongation and ferrocene-modified nucleoside triphosphates [J]. ACS Cent Sci, 2023, 9(8): 1591-1602.

[6] GINSBERG C, IX J H. Diagnosis and management of osteoporosis in advanced kidney disease: a review[J]. Am J Kidney Dis, 2022, 79(3): 427-436.

[7] RAHIMIAN N, NAHAND J S, HAMBLIN M R, et al. Exosomal microRNA profiling [J]. Methods Mol Biol, 2023, 2595: 13-47.

[8] LI D F, LIU J, GUO B S, et al. Osteoclast-derived exosomal miR-214-3p inhibits osteoblastic bone formation[J]. Nat Commun, 2016, 7: 10872-10888.

[9] DUAN Y, TAN Z W, YANG M S, et al. PC-3-Derived exosomes inhibit osteoclast differentiation by downregulating miR-214 and blocking NF-κB signaling pathway[J]. Biomed Res Int, 2019, 2019: 8650846.

[10] SUN W J, ZHAO C Y, LI Y H, et al. Osteoclast-derived microRNA-containing exosomes selectively inhibit osteoblast activity[J]. Cell Discov, 2016, 2: 16015.

[11] SUN Z B, SHI J J, YANG C Y, et al. Identification and evaluation of circulating exosomal miRNAs for the diagnosis of postmenopausal osteoporosis [J]. J Orthop Surg Res, 2023, 18(1): 533.

[12] MENG Y B, LI X, LI Z Y, et al. microRNA-21 promotes osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells by the PI3K/β-catenin pathway [J]. J Orthop Res, 2015, 33(7): 957-964.

[13] RACHNER T D, KHOSLA S, HOFBAUER L C. Osteoporosis: now and the future[J]. Lancet, 2011, 377(9773): 1276-1287.

[14] WANG L, MUSEYKO O, SU Y B, et al. QCT of the femur: comparison between QCT Pro CTXA and MIAF femur[J]. Bone, 2019, 120: 262-270.

[15] LACOMINO G. miRNAs: the road from bench to bedside [J]. Genes, 2023, 14(2): 314.

[16] HO P T B, CLARK L M, LE L T T, et al. MicroRNA-based diagnosis and therapy [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(13): 7167.

[17] KALLURI R, LEBLEU V. The biology, function, and biomedical applications of exosomes [J]. Science, 2020, 367(6478): eaau6977.

[18] LSAAC R, REIS F C G, YING W, et al. Exosomes as mediators of intercellular crosstalk in metabolism [J]. Cell Metab, 2021, 33(9): 1744-1762.

[19] DU S S, LING H, GUO Z Y, et al. Roles of exosomal miRNA in vascular aging [J]. Pharmacol Res, 2021, 165: 105278.

[20] LIN B Q, JIANG J T, JIA J X, et al. Recent advances in exosomal miRNA biosensing for liquid biopsy [J]. Molecules, 2022, 27(21): 7145.

[21] AKAO Y, LIO A, ITOH T, et al. Microvesicle-mediated RNA molecule delivery system using monocytes/macrophages [J]. Mol Ther, 2011, 19(2): 395-399.

(收稿日期: 2024-02-08 修回日期: 2024-04-10)

(上接第 1202 页)

[14] AMIN M B, GREENE F L, EDGE S B, et al. The eighth edition AJCC cancer staging manual: continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging[J]. CA Cancer J Clin, 2017, 67(2): 93-99.

[15] 汤俊, 黄春锦, 陈玺. 老年结直肠癌患者血清内 CEA、AFP、CA50、CA199 和 CA724 的表达及意义[J]. 实用癌症杂志, 2019, 34(3): 397-399.

[16] 贾沛杰. 血清 CA724、CA199 联合 CEA 诊断结直肠癌的临床价值[J]. 中国肛肠病杂志, 2022, 42(5): 14-16.

[17] BADER EL DIN N G, FAROUK S, ABDEL-SALAM L O, et al. The potential value of miRNA-223 as a diagnostic biomarker for Egyptian colorectal patients[J]. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2021, 33(1): 25-31.

[18] ABO-ELELA D A, SALEM A M, SWELLAM M, et al. Potential diagnostic role of circulating miRNAs in colorectal cancer[J]. Int J Immunopathol Pharmacol, 2023, 37: 3946320221144565.

[19] CHUMA M, TOYODA H, MATSUZAKI J, et al. Circulating microRNA-1246 as a possible biomarker for early tumor recurrence of hepatocellular carcinoma[J]. Hepatol Res, 2019, 49(7): 810-822.

[20] LI X D, CHEN R, LI Z F, et al. Diagnostic value of combining miRNAs, CEA measurement and the FOBT in colorectal cancer screening[J]. Cancer Manag Res, 2020, 12: 2549-2557.

(收稿日期: 2023-10-05 修回日期: 2024-01-12)